1891
Lane Medical Library

Ueber einen,

bei der Einwirkung isolirter Leberzellen auf Hämoglobin oder Eiweiss, entstehenden harnstoffähnlichen Körper.

Von

Woldemar Fick.

Dorpat.

Schnakenburg's Buchdruckerei.

1891.

Ueber einen,

bei der Einwirkung isolirter Leberzellen auf Hämoglobin oder Eiweiss, entstehenden harnstoffähnlichen Körper.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades

eines

Doctors der Medicin

verfasst und mit Bewilligung

Einer Hochverordneten Medicinischen Facultät der Kaiserlichen Universität

zu Dorpat

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

Woldemar Fick.

Ordentliche Opponenten:

Priv.-Doc. Dr. **F. Krüger.** — Prof. Dr. **K. Dehio.** — Prof. Dr. **Al. Schmidt.**

Dorpat.

Schnakenburg's Buchdruckerei.

1891.

Gedruckt mit Genehmigung der Medicinischen Facultät.
Referent: Professor Dr. A. Schmidt.
Dorpat, den 10. Mai 1891.
No. 238. Decan: **Dragendorff.**

Meinem Vater.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem verehrten Lehrer, Prof. Dr. Alex. Schmidt, auf dessen Anregung diese Arbeit entstanden ist, und der mir bei Ausführung derselben mit Rath und That beigestanden hat, an dieser Stelle meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Den Herren Prof. Dr. Carl Schmidt und Privat-Doc. Dr. F. Krüger danke ich für das liebenswürdige Interesse, das sie an meiner Arbeit gezeigt haben.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154018_0152

Die vorliegende Arbeit ist eine Fortsetzung der von Anthen[1]), Kallmeyer[2]) Klein[3]) und N. Hoffmann[4]) verfassten Dissertationen. Dieselben bewiesen, dass die Leberzelle das Hömoglobin bei Gegenwart von Glycogen oder Traubenzucker zerstört, wobei Kallmeyer noch insbesondere die Entstehung der Gallensäuren aus dem Hämoglobin nachwies und Klein zeigte, dass auch das Serumeiweiss von den Leberzellen zu Gallensäuren verarbeitet wird. Durch die Arbeit von N. Hoffmann wissen wir ferner, dass aus der mit den Leberzellen in Berührung gewesenen und entfärbten Hämoglobinlösung das Eiweissmolekül bis auf ganz geringe Spuren verschwindet. Es erscheint fraglos, dass aus dem zugeführten Hämoglobin resp. Eiweiss die in der Galle mit der Cholsäure gepaarten Produkte der regressiven Eiweissmetamorphose, das Glycin und das

---

1) E. Anthen: Ueber die Wirkung der Leberzelle auf das Hömoglobin. Inaug.-Diss. Dorpat 1889.

2) B. Kallmeyer: Ueber die Entstehung der Gallensäuren etc. Inaug.-Diss. Dorpat 1889.

3) J. Klein: Ein Beitrag zur Function der Leberzellen. Inaug.-Diss. Dorpat 1890.

4) N. Hoffmann: Einige Beobachtungen, betreffend die Function der Leber- und Milzzellen. Inaug.-Diss. Dorpat 1890.

Taurin entstehen. Ob aber ausser diesen beiden Stoffen sich noch andere stickstoffhaltige Derivate des Eiweisses in der durch die Leberzellen entfärbten Hämoglobinlösung nachweisen liessen, ist die Frage, zu deren Beantwortung die vorliegende Arbeit einen Beitrag liefern soll.

Ich habe mich darauf beschränkt die über den Leberzellen stehende Flüssigkeit auf ihren etwaigen Harnstoffgehalt zu untersuchen und habe die übrigen in Betracht kommenden Eiweissderivate nicht weiter berücksichtigt. Dazu bewog mich vornehmlich der Umstand, dass W. v. Schröder in seiner im „Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie," erschienenen Arbeit, eine Harnstoffbildung in der Leber wahrscheinlich macht. Es war nun interessant zu untersuchen, ob die isolirten Leberzellen, nachdem sie in der von Anthen beschriebenen Weise behandelt worden, ein ähnliches Verhalten zeigen, wie die ganzen Lebern bei v. Schröder's Durchblutungsversuchen, d. h. mit anderen Worten, ob die Leberzelle im Stande ist eine ihr im Leben zukommende Funktion unter günstigen Umständen auch ausserhalb der Leber resp. des Organismus auszuüben, wie das mit der Bildung der Gallensäuren der Fall ist.

Bevor ich auf meine Untersuchungen eingehe, will ich noch einige Bemerkungen über die Herstellung des Zellenbreies vorausschicken, da ich von dem bisher üblichen Verfahren etwas abgewichen bin.

Meine Versuche habe ich mit sehr stark ausgewaschenen Zellen angestellt. Die Waschflüssigkeit, eine 0,6% Kochsalzlösung, wurde drei Mal täglich gewechselt, so lange bis auf Zusatz von Essigsäure keine Trübung mehr eintrat. Es wird nämlich durch

die Kochsalzlösung den Zellen in ziemlich beträchtlicher Menge Cytoglobin entzogen, so dass die ersten Waschflüssigkeiten stets eine recht starke Eiweissreaction zeigten, die erst verschwand, nachdem die Zellen vier bis fünf Tage ausgewaschen worden waren. Die so ausgewaschenen Zellen zeigten sich nun viel energischer wirksam, als schwach ausgewaschene. Während bei den letzteren die vollständige Entfärbung der Hämoglobinlösung in vier bis fünf Tagen eintrat, konnte ich dieselbe bei den stark ausgewaschenen Zellen meist schon nach 48 Stunden, bei einem Versuch sogar nach 18 Stunden beobachten. Dieses Verhalten erlaubt uns einen Schluss auf den Chemismus in den Zellen. Nach Ad. Knüpffer[1]) bestehen die Zellen, abgesehen von den durch Alkohol extrahirbaren Bestandtheilen, aus einem unlöslichen Grundstoff, dem Cytin und dem Cytoglobin und enthalten, wenn überhaupt, nur in Spuren fertig gebildetes Eiweiss. Da nun die Entziehung des Cytoglobins durch die Waschflüssigkeit den Process der Hämoglobin- resp. Eiweisszerstörung nicht verlangsamt, sondern im Gegentheil beschleunigt, so müssen wir annehmen, dass der wirksame Zellbestandtheil bei diesem Process das Cytin ist und dass das Cytoglobin in gewissem Sinne das Ernährungsmaterial darstellt, dessen Mangel durch lebhafteren Eiweissverbrauch aus der mit den Zellen in Berührung stehenden Flüssigkeit gedeckt werden soll.

Der aus stark ausgewaschenen Zellen bestehende Brei ist fast vollkommen weiss. Um die Zwischenflüssigkeit zu entfernen habe ich die Zellen nicht, wie

1) Ad. Knüpffer: Ueber den unlöslichen Grundstoff der Lymphdrüsen- und Leberzelle. Inaug.-Diss. Dorpat 1891.

bisher, centrifugiren lassen, sondern dieselben durch Filtriren durch Fliesspapier von der Flüssigkeit getrennt, was um so leichter und vollständiger gelingt, je länger die Zellen ausgewaschen wurden. Der Vortheil dieses Verfahrens liegt einerseits in der Zeitersparniss, andererseits aber auch darin, dass man durch Filtriren die Zwischenflüssigkeit viel vollständiger entfernen kann, dass man also einen viel dickeren Zellenbrei und mithin in demselben Volumen mehr wirksame Zellen erhält, als durch Centrifugiren.

Wie oben erwähnt habe ich nur den Harnstoff in den Bereich meiner Untersuchungen gezogen. Ich habe dabei das von v. Schröder zum Nachweis des Harnstoffs angegebene Verfahren eingeschlagen, welches nur durch die nothwendige Entfernung des in der Flüssigkeit enthaltenen Kochsalzes etwas modificirt werden musste. Ich verfuhr bei meinen Versuchen folgendermassen: Ich brachte eine bestimmte Menge Leberzellen mit dem doppelten Volumen einer Hämoglobinlösung[1]), die 0,6% Kochsalz und 0,6% Traubenzucker enthielt, zusammen und liess sie bis zur vollständigen Entfärbung stehen. Die Concentration der Hämoglobinlösung war dieselbe, wie sie von N. Hoffmann angegeben wird. Nachdem die Hämoglobinlösung vollständig entfärbt war und keine, oder nur schwache Eiweissreaction zeigte, wurde sie durch Filtriren von den Zellen getrennt und eingedampft. Da nach v. Schröder's Angabe der Harnstoff sich durch das Eindampfen bei höherer Temperatur zum Theil zersetzt, liess ich dieselbe nie höher als bis 75° Celsius ansteigen. Die auf

1) Das Hämoglobin war durch mehrfaches Umkrystallisiren aus Pferdeblut gewonnen.

ein sehr kleines Volumen eingeengte Flüssigkeit wurde nun mit dem 100—200-fachen Volumen starken Alkohols versetzt, um etwa vorhandenes Eiweiss zu coaguliren. Nachdem dieses abfiltrirt, wurde das Filtrat eingedampft und der Rückstand in Wasser aufgenommen und filtrirt. Jetzt wurde durch salpetersaures Silber das Kochsalz ausgefällt und der Niederschlag abfiltrirt. Mit der so erhaltenen wässerigen Flüssigkeit verfuhr ich nun genau nach den Angaben v. Schröder's. Es wurde zunächst Mercurinitrat im Ueberschuss zugesetzt, wodurch ich einen ziemlich voluminösen, flockigen Niederschlag erhielt. Den Niederschlag liess ich sich absetzen und entfernte die darüberstehende Flüssigkeit, so weit sie sich klar abheben liess, um nicht zu grosse Mengen von Barytwasser zur Neutralisation der überschüssigen Salpetersäure verwenden zu müssen. Der Niederschlag wurde jetzt mit Barytwasser versetzt, bis die Reaction neutral oder nur schwach sauer war und dann durch einen Strom von Schwefelwasserstoff zersetzt, dessen Ueberschuss durch Durchblasen von Luft entfernt wurde. Dann wurde wieder Barytwasser zugesetzt, bis die Reaction alkalisch wurde und nun Kohlensäure bis zur neutralen Reaction durchgeleitet. Das unlösliche Schwefelquecksilber, Schwefelsilber (durch einen eventuellen Ueberschuss von salpetersaurem Silber bei der Kochsalzfällung hineingelangt) und der kohlensaure Baryt wurden abfiltrirt; in der Flüssigkeit gelöst blieben salpetersaurer Baryt, salpetersaures Natron und eventuell Harnstoff. Die Flüssigkeit wurde eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen, filtrirt und entweder nach der Liebig'schen Methode titrirt oder weiter zur Reindarstellung verarbeitet.

Bei meinen ersten Versuchen verzichtete ich auf die Reindarstellung des Harnstoffes und suchte, indem ich es zunächst für wahrscheinlich annahm, dass der durch Mercurinitrat gefällte Körper in der That Harnstoff sei, durch die Resultate der Titrirmethode die günstigsten Bedingungen für die Harnstoffbildung zu ermitteln. Ich behielt mir vor zum Schlusse meiner Untersuchungen eine grössere Menge von Flüssigkeit zur Reindarstellung zu verwenden und dadurch festzustellen, ob der in Frage stehende Körper mit Harnstoff identisch sei. Es kam mir zunächst darauf an zu constatiren:

1. Ob der eventuell in der Flüssigkeit sich findende Harnstoff schon v o r dem Zusammenbringen der Zellen mit der Hämoglobinlösung in den ersteren vorhanden war und durch die Flüssigkeit nur extrahirt wurde, oder ob er später in den Zellen gebildet wurde;
2. im letzteren Falle, ob Hämoglobin die Harnstoffbildung befördert;
3. ob Serumeiweiss sich ebenso wie Hämoglobin verhält;
4. ob Zucker ebenso wie bei der Gallensäurebildung auch bei der eventuellen Harnstoffbildung sich als nothwendig erweist;
5. ob ein Kochsalzgehalt von 0,6 % die letztere begünstigt.

Um über die erste Frage Aufschluss zu erhalten, untersuchte ich die Waschflüssigkeiten der Leberzellen. Ich entnahm von der ersten Waschflüssigkeit 100 Cubikcentimeter und behandelte sie nach der oben angegebenen Methode. Ich erhielt mit Mercurinitrat einen

ziemlich bedeutenden Niederschlag. Nachdem ich die Zellen vier Tage ausgewaschen hatte, behandelte ich 100 Cubikcentimeter der letzten Waschflüssigkeit genau ebenso und konnte jetzt constatiren, dass Mercurinitrat nicht die geringste Trübung in der Flüssigkeit hervorrief. Daraus konnte ich schliessen, dass, wenn in der Flüssigkeit des mit Hämoglobinlösung versehenen Präparates späterhin Harnstoff auftrat, dieser nicht schon früher in den Zellen enthalten gewesen sein konnte, sondern sich später im Präparate gebildet haben musste.

Zur Beantwortung der anderen oben aufgestellten Fragen, stellte ich nun einige Versuche an.

Versuch I.

Es wurden folgende vier Präparate aufgestellt; in sämmtlichen besass die zu den Zellen zugesetzte Flüssigkeit einen Kochsalzgehalt von 0,6 %. Dieses gilt überhaupt von allen meinen Versuchen mit Ausnahme des Versuchs II, wo ich kochsalzfreie Lösungen anwandte.

Präparat Nr. 1 enthielt:

Zellenbrei	50	Cubikcentimeter
Wasser	100	„
Serum	5	„
Kochsalz	0,6	Gramm
Traubenzucker . .	0,6	„

Präparat Nr. 2 enthielt:

Zellenbrei	50	Cubikcentimeter
Wasser	100	„
Serum	10	„
Kochsalz	0,6	Gramm
Traubenzucker . .	0,6	„

Präparat Nr. 3 enthielt:

Zellenbrei	50	Cubikcentimeter
Wasser	100	„
Serum	15	„
Kochsalz	0,6	Gramm
Traubenzucker . .	0,6	„

Präparat Nr. 4 enthielt:

Zellenbrei	50	Cubikcentimeter
Hämoglobinlösung .	100	„
Kochsalz	0,6	Gramm
Traubenzucker . .	0,6	„

Zu diesen 4 stellte ich zwei Controllpräparate her, von denen das eine

Nr. 5.

Zellenbrei	50	Cubikcentimeter
Wasser	100	„
Kochsalz	0,6	Gramm
Traubenzucker . .	0,6	„

das andere

Nr. 6.

Zellenbrei	50	Cubikcentimeter
Wasser	100	„
Kochsalz	0,6	Gramm

enthielt.

Die drei ersten Präparate enthielten Serum in verschiedenen Mengen, um zu untersuchen, ob dadurch auch eine Verschiedenheit im eventuellen Harnstoffgehalt der Flüssigkeit bedingt werde.

Als die Hämoglobinlösung vollständig entfärbt war und kein Eiweiss mehr enthielt, filtrirte ich sämmtliche Flüssigkeiten von den Zellen ab und behandelte sie

nach der oben beschriebenen Methode. Die Präparate, welchen ich Serum zugesetzt hatte, enthielten um diese Zeit noch ziemlich viel Eiweiss. Ich habe bei einigen, zu andern Zwecken angestellten Versuchen, die Serum enthaltenden Präparate noch längere Zeit stehen lassen, um mich zu überzeugen ob auch hier das Eiweissmolekül allmählich vollständig verschwindet, habe jedoch dieses Verhalten kein einziges Mal beobachten können, sei es, weil die Menge des zugesetzten Serum — sie betrug stets etwa 5—10 % der zu den Zellen zugesetzten Flüssigkeit — zu gross war, als dass die Leberzellen sie bewältigen könnten, sei es, dass das Serum überhaupt nicht in so ausgiebiger Weise von den Zellen verbraucht wird, wie das Hämoglobin.

Durch die Titrirung der sechs zu untersuchenden Lösungen kam ich zu folgenden Resultaten:

Sämmtliche 6 Präparate enthielten einen durch Mercurinitrat fällbaren Körper, aber in verschiedenen Mengen. Ich gebe nachstehend die für jedes einzelne Präparat erforderliche Menge von Titrirlösung in Cubikcentimetern an, ohne mir daraus auf den absoluten Gehalt an jenem Körper in den zu untersuchenden Flüssigkeiten einen Schluss zu erlauben und zwar, weil die Titrirlösung nicht auf eine so verdünnte Harnstofflösung eingestellt war, mithin den vorausgesetzten Harnstoffgehalt nicht quantitativ genau angeben konnte, wohl aber dazu geeignet erschien, das Verhältniss der einzelnen Flüssigkeiten zu einander in Bezug auf ihren eventuellen Harnstoffgehalt erkennen zu lassen.

Präparat 1 erforderte 4,1 Cbcm. Titrirflüssigkeit.
„ 2 „ 5,9 „ „
„ 3 „ 4,1 „ „

Präparat 4 erforderte 5,0 Cbcm. Titrirflüssigkeit.
„ 5 „ 4,9 „ „
„ 6 „ 3,0 „ „

Versuch II.

Bei diesem Versuch, wo ich genau dieselben Präparate, wie im 1. Versuche aufstellte, nur dass ich statt der 0,6 % Kochsalzlösung in allen Präparaten destillirtes Wasser nahm, stellte sich das Verhältniss etwas anders, wenngleich in den Hauptsachen dasselbe Resultat zu verzeichnen ist.

Hier erforderte:

Präparat 1 = 2,5 Cbcm. Titrirflüssigkeit.
„ 2 = 3,4 „ „
„ 3 = 5,0 „ „
„ 4 = 5,5 „ „
„ 5 = 3,5 „ „
„ 6 = 2,1 „ „

Versuch III.

Bei diesem Versuche, bei dem ich ein Präparat mit zuckerhaltiger Hämoglobinlösung und ein hämoglobinfreies, Zucker enthaltendes, Controllpräparat (entsprechend Nr. 4 und 5 in dem I. Versuch) aufgestellt hatte, ergab die Untersuchung mit einer eigens zu diesem Zweck für sehr verdünnte Harnstofflösungen hergestellten Titrirflüssigkeit, dass das hämoglobinhaltige Präparat nach der Menge der erforderlichen Titrirlösung zu urtheilen, fast $2^1/_2$ Mal soviel Harnstoff enthielt als das Controllpräparat und zwar **0,04 %** während das letztere nur **0,018 %** aufwies.

Versuch IV.

Bei diesem Versuch stellte ich drei Präparate auf; das eine enthielt Hämoglobin, die beiden anderen waren hämoglobinfreie Controllpräparate, beide selbstverständlich mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, das eine ausserdem zuckerhaltig, das andere zuckerfrei. Dieser Versuch ergab folgendes Resultat: Die beiden Controllpräparate erforderten annähernd die gleiche Menge von Titrirlösung, das Hämoglobinpräparat dagegen so viel mehr, dass ich auf einen um 40 % höheren Harnstoffgehalt schliessen konnte.

Vergleichen wir die Resultate der aufgeführten vier Versuche, so sehen wir, dass dieselben im 2., 3. und 4. gut mit einander übereinstimmen; im ersten Versuch finden wir, dass die zuckerhaltige Controlle (Nr. 5) an eventuellem Harnstoffgehalt der entfärbten Hämoglobinlösung nahezu gleichkommt und dass nicht das Hämoglobinpräparat, sondern das Präparat Nr. 2 mit 10 % Serumgehalt am meisten Titrirlösung erfordert. Bei allen Versuchen ergeben sich indessen folgende gemeinsame Resultate:

Die Liebig'sche Titrirmethode giebt bei allen Präparaten ein positives Resultat, obgleich die Zwischenflüssigkeit der Zellen, vor dem Aufstellen der Präparate, also unmittelbar nach Beendigung des Waschens mit Mercurinitrat keine Spur eines Niederschlages gab. Wir müssen daher annehmen, dass der Chemismus in den Zellen, auch wenn diesen von aussen her kein Material zur Verarbeitung zugeführt wird, doch ungestört seinen Verlauf nimmt und dass in einem solchen Falle Bestandtheile des Zellleibes selbst zur

Verwendung gelangen. Ferner sehen wir, dass in allen Fällen auch die mit den Zellen in Berührung gewesene reine physiologische Kochsalzlösung (Nr. 6) nach einigen Tagen gegen Mercurinitrat wie eine Harnstofflösung reagirt, wenn sie auch bezüglich der Menge der erforderlichen Titrirlösung hinter den andern Präparaten, namentlich auch hinter dem, neben Kochsalz auch Zucker enthaltenden, zurückbleibt. Es scheint also, dass der Zucker einen wichtigen Factor bei der Bildung des betreffenden durch die Titrirung festgestellten Körpers darstellt, ja es liesse sich sogar die Annahme nicht ganz von der Hand weisen, dass die Bildung dieses Körpers, ebenso wie die Glycin- und Taurinbildung im zuckerfreien Präparat überhaupt nur durch die Gegenwart von Glycogen in den Zellen ermöglicht wird, welches, wie Kallmeyer gezeigt hat, den Zellen auch durch starkes Auswaschen nie vollständig entzogen werden kann.

Was die Serum enthaltenden Präparate anbetrifft, so finden wir, dass nur im 2. Versuche einem höheren Serumgehalt im Präparat auch ein grösserer Verbrauch an Titrirlösung entspricht. Man muss indessen bedenken, dass in diesen Präparaten die Flüssigkeit bis zu Ende eiweisshaltig blieb, mithin ein Ueberschuss an zu verarbeitendem Material vorhanden war; jedenfalls könnte man nur dann ein festes Verhältniss zwischen zugeführtem Eiweiss und etwa gebildetem Harnstoff erwarten, wenn ersteres vollkommen verbraucht würde. In dem vorliegenden Falle gelangt aber der Ueberschuss überhaupt nicht zur Verwendung und es lag daher gar nicht die Nothwendigkeit vor, dass in dem am meisten Serum enthaltenden Präparate auch am

meisten Harnstoff gebildet würde. Soviel steht aber jedenfalls fest, dass das Serumeiweiss, ebenso wie das Hämoglobin, wie zur Gallensäurenbildung so auch zur Harnstoffbildung verwendet wird, sofern der durch Titrirung nachweisbare Körper wirklich Harnstoff ist. Nur macht es den Eindruck, als ob das Hämoglobin für den Chemismus in den Zellen das günstigere Material darstellt, jedenfalls zeigt nur ein einziges Serumpräparat (Nr. 2 im ersten Versuch) einen höheren Gehalt an dem uns hier interessirenden Körper, als das entsprechende Hämoglobinpräparat; ausserdem aber enthielt die zuckerhaltige Controlle (Nr. 5) sowohl im ersten wie im zweiten Versuch mehr von demselben als einige von den Serumpräparaten, während sie dem Hämoglobinpräparat nur in einem Falle an Verbrauch von Titrirlösung fast gleich kommt.

Wie ich oben erwähnte, stellte ich im 2. Versuche alle meine Präparate nicht mit physiologischer Kochsalzlösung, sondern mit destillirtem Wasser auf, um den Einfluss des Kochsalzes auf die etwaige Harnstoffbildung zu ermitteln. K l e i n führt in seiner Arbeit an, dass ein Gehalt von 0,6 % Kochsalz in der Flüssigkeit den Zersetzungsvorgang befördere. Aus seinen Versuchen ist ersichtlich, dass die kochsalzhaltige Hämoglobinlösung rascher e n t f ä r b t wurde, als die wässerige, wobei zugleich auch der Zuwachs an Gallensäuren dort ein grösserer war als hier. Ich kann diese Angabe, was die Entfärbung anbetrifft, nach meinen Versuchen nicht bestätigen, die wässerige Hämoglobinlösung wurde ebenso rasch, einmal sogar rascher entfärbt als die kochsalzhaltige. Wohl aber scheint die Zerstörung des Eiweisskernes im Hämoglobin bei Zu-

satz von Kochsalz schneller von Statten zu gehen, denn während beim kochsalzhaltigen Hämoglobinpräparat der Schwund des Eiweisses ziemlich mit der vollständigen Entfärbung zusammenfiel, konnte ich im wässerigen Hämeglobinpräparat noch 24 Stunden nach der Entfärbung durch Kochen mit Essigsäure nach Zusatz von schwefelsaurem Natron einen Niederschlag erhalten. Man könnte dagegen einwenden, dass beim zweiten, mit den Zellen einer anderen Leber angestellsen Versuche, die Zellen etwa durch stärkeres Auswaschen wirksamer waren, als im ersten Versuche und so der der Entfärbung eigentlich hinderliche Kochsalzmangel paralysirt war, ich habe indessen später stark ausgewaschene Zellen derselben Leber sowohl mit kochsalzhaltiger als auch mit wässeriger Hämoglobinlösung gleichzeitig aufgestellt und hier ebenfalls keine die Entfärbung befördernde Wirkung des Kochsalzes constatiren können. Auch bezüglich der Bildung des durch Mercurinitrat nachweisbaren Körpers schien sich das Kochsalz indifferent zu verhalten. Jedenfalls konnte man in dem mit wässeriger Hämoglobinlösung aufgestellten Präparate, sofern man es so lange stehen liess, bis alles Eiweiss geschwunden war, dieselbe Menge dieses Körpers nachweisen wie im kochsalzhaltigen; man muss allerdings im Auge behalten, dass an den Zellen, trotz des Filtrirens stets Spuren der kochsalzhaltigen Waschflüssigkeit haften blieben, so dass auch die mit wässerigen Lösungen aufgestellten Präparate stets etwas Kochsalz enthielten.

Nachdem ich auf die angegebene Weise das Vorhandensein eines durch Mercurinitrat fällbaren Körpers, den ich anfangs für Harnstoff hielt, sowie eine Ver-

mehrung desselben bei Hämoglobin- resp. Eiweisszufuhr, ermittelt hatte, blieb mir nun noch die Reindarstellung desselben übrig, um die Identität mit Harnstoff festzustellen. Ich stellte, um möglichst grosse Mengen reiner Substanz zu erhalten, 400 Cubikcentimeter Zellenbrei mit 800 Cubikcentimetern einer kochsalzhaltigen Hämoglobinlösung, der ich 10% Serum und 0,6% Traubenzucker zugesetzt hatte, auf und wartete die vollständige Entfärbung ab. Die alsdann von den Zellen abfiltrirte Flüssigkeit war von hellgrünlicher Farbe und, wie wegen des Serumgehaltes zu erwarten war, ziemlich stark eiweisshaltig. Diese Flüssigkeit behandelte ich nach der oben angeführten Methode und verarbeitete sie dann nach dem von v. Schröder zur Reindarstellung des Harnstoffs angegebenen Verfahren weiter. Das Schröder'sche Verfahren ist folgendes: wie ich oben angeführt, wird nach Neutralisation des überschüssigen Barythydrats durch Kohlensäure das unlösliche Schwefelquecksilber, Schwefelsilber und der kohlensaure Baryt abfiltrirt, die Flüssigkeit eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und filtrirt. Will man jetzt aus dieser Flüssigkeit den Harnstoff rein darstellen, so kommt es im Wesentlichen darauf an, den salpetersauren Baryt, der bei der Titrirung nicht hinderlich ist, fortzuschaffen. Zu dem Zweck wird die wässrige Lösung mit dem mehrfachen Volumen absoluten Alkohols versetzt, wodurch der grösste Theil des salpetersauren Baryts ausfällt, welcher abfiltrirt wird. Das alkoholische Filtrat wird eingedampft und der Rückstand in wenig absolutem Alkohol aufgenommen und nun das 2—3fache Volumen Essigäther zugesetzt, wodurch ebenfalls salpetersaurer Baryt ausfällt. Nachdem der Nie-

derschlag abfiltrirt worden, wird der Essigäther abgedampft und der Rückstand wieder in absolutem Alkohol gelöst. Nachdem ich die Aufnahme des Rückstandes in Alkohol und den Zusatz von Essigäther mehrere Mal wiederholt, trat schliesslich keine Fällung mehr ein und ich konnte keinen Baryt mehr in der Flüssigkeit nachweisen. Ich nahm nun nach Abdampfen des Essigäthers den Rückstand in Wasser auf und liess die Lösung im Vacuum verdunsten. Ich erhielt auf diese Weise nadelförmige gefiederte Krystalle in einer dicken gelblich gefärbten Schmiere, die mit Lebhaftigkeit Feuchtigkeit anzog. Die so hergestellte Masse prüfte ich nun auf einige für Harnstoff charakteristische Reactionen. Ich brachte einen kleinen Theil der Masse in wässerige Lösung und erwärmte diese mit metallischem Quecksilber und etwas Salpetersäure. Es traten, wie das mit Harnstoff der Fall ist, bei gelindem Erwärmen farblose Dämpfe auf, die, weil zum Theil aus Kohlensäure bestehend, an einem mit Barytwasser befeuchteten Glasstabe einen weisslichen Belag von kohlensauren Baryt, bewirkten. Ich suchte dann ferner die charakteristischen Krystallformen des oxalsauren und namentlich des salpetersauren Harnstoffs herzustellen. Mit Oxalsäure behandelt traten Krystallformen auf, die denen des oxalsauren Harnstoffs ausserordentlich ähnlich waren, wie ich mich durch den Vergleich mit einem anderen Präparat, das ich aus reinem Harnstoff durch Behandlung mit Oxalsäure hergestellt hatte, überzeugen konnte. Mit Salpetersäure konnte ich jedoch überhaupt keine Krystalle erhalten und auch bei meinen späteren Versuchen gelang es mir kein einziges Mal. Ebenso wenig konnte ich beim Ueberschichten der in der hygroskopischen

Masse befindlichen Krystalle mit in Chloroform gelöstem Brom Glasblasen an denselben auftreten sehen, wie das v. Schröder für Harnstoffkrystalle angiebt; auch mit Brom und Natronlauge behandelt zeigte sich keine Gasentwickelung. Es schien mir nun sehr zweifelhaft, dass der durch Merkurinitrat gefällte Körper wirklich Harnstoff sei und ich prüfte daher sein Verhalten gegenüber Phosphorwolframsäure, durch welche Harnstoff nicht gefällt wird. Ich löste etwas von der krystallinischen Masse in Wasser und fügte ein paar Tropfen Phosphorwolframsäure hinzu und erhielt einen weissen Niederschlag. Es lag nun noch die Möglichkeit vor, dass ausser diesem durch Phosphorwolframsäure fällbaren Körper auch noch Harnstoff vorhanden war und dass das Auftreten von Krystallen bei Behandlung mit Salpetersäure durch irgend welche Umstände verhindert wurde. Ich löste daher den Rest der mir zur Verfügung stehenden Substanz in Wasser, versetzte die Lösung mit Phosphorwolframsäure, so lange noch ein Niederschlag entstand und filtrirte diesen ab. In die Flüssigkeit brachte ich nun basisch-essigsaures Blei, filtrirte den Niederschlag ab und zersetzte die Flüssigkeit durch einen Strom von Schwefelwasserstoff, dessen Ueberschuss ich durch Durchblasen von Luft wieder entfernte. Darauf filtrirte ich das ausgeschiedene Schwefelblei ab und erhielt nun in der klaren Flüssigkeit durch Mercurinitrat keine Spur einer Trübung mehr. Es waren also ausser dem mit Phosphorwolframsäure gefällten Körper keine Stoffe mehr vorhanden, die mit salpersaurem Quecksilberoxyd einen Niederschlag gaben, die Flüssigkeit enthielt mithin keinen Harnstoff.

Diese Versuche wiederholte ich mehrmals und erhielt mit der rein dargestellten Substanz stets dieselben Resultate. Nur ein einziges Mal verhielt sich dieselbe etwas abweichend. Sie war nicht so stark hygroskopisch und enthielt mehr nadelförmige Krystalle. Wurden diese mit Brom und Natronlauge behandelt, so trat lebhafte Gasentwickelung auf, was ich bisher nicht beobachtet hatte. Doch auch hier gelang es mir nicht mit Salpetersäure irgend welche charakteristische Krystalle zu erhalten, auch die Biuretreaction ergab ein negatives Resultat.

Um einige Anhaltspunkte über die Beschaffenheit des nach dem angegebenen Verfahren dargestellten Körpers zu erhalten, untersuchte ich einige mir zu Verfügung stehende organische Substanzen, sowohl Produkte der regressiven Eiweissmetamorphose, als auch andere, deren Vorhandensein in der über den Leberzellen stehenden Flüssigkeit, möglich war. Es kam mir dabei besonders darauf an, das Verhalten dieser Substanzen gegenüber salpetersaurem Quecksilberoxyd und Phosphorwolframsäure zu prüfen. Die in Wasser schwer löslichen oder unlöslichen Substanzen wurden in verdünnter Salpetersäure gelöst. Die Resultate dieser Untersuchung habe ich in folgender Tabelle zusammengefasst.

Fällbar durch Mercurinitrat, nicht fällbar durch Phosphorwolframsäure.	Fällbar durch Mercurinitrat und Phosphorwolframsäure.	Fällbar weder durch Mercurinitrat noch durch Phosphorwolframsäure.
1. Glycocholsaures Natron. Der Niederschlag ist in doppeltkohlensaurem Natron sehr leicht löslich, unlöslich im Ueberschuss des Fällungsmittels, leicht löslich in concentrirter Salpetersäure. 2. Harnstoff. Der Niederschlag ist in doppelt-kohlensaurem Natron unlöslich, ebenso im Ueberschuss des Fällungsmittels, leicht löslich in concentrirter Salpetersäure. 3. Asparagin. Verhält sich wie Harnstoff. 4. Asparaginsäure. Verhält sich wie Harnstoff und Asparagin.	1. Hypoxanthin. Der durch Mercurinitrat entstehende Niederschlag ist unlöslich in doppeltkohlensaurem Natron, im Ueberschuss des Fällungsmittels und in concentrirter Salpetersäure. 2. Kreatinin. Der durch Mercurinitrat entstehende Niederschlag ist in doppeltkohlensaurem Natron unlöslich, dagegen leicht löslich im Ueberschuss des Fällungsmittels und in concentrirter Salpetersäure. 3. Xanthin in salpetersauser Lösung. Der durch Mercurinitrat entstehende Niederschlag ist in doppeltkohlensaurem Natron unlöslich, ebenso im Ueberschuss des Fällungsmittels, löslich dagegen in concentrirter Salpetersäure. 4. Guanin verhält sich wie Xanthin. 5. Neurinum hydrochloricum verhält sich wie Guanin und Xanthin.	1. Leucinum nitricum. 2. Tyrosin. 3. Taurin. 4. Glycin (Glycocoll). 5. Succinimid.

Wir sehen, dass der aus der Leberzellenflüssigkeit dargestellte Körper sich in die zweite Rubrik einstellen lässt; er ist sowohl durch Mercurinitrat als auch durch Phosphorwolframsäure fällbar. Bezüglich seines weiteren Verhaltens kann ich folgendes anführen: Er ist in Wasser sehr leicht löslich. Der durch Mercurinitrat in der wässerigen Lösung erzeugte Niederschlag ist in kohlensaurem Natron unlöslich, ebenso im Ueberschuss des Fällungsmittels, dagegen leicht löslich in concentrirter Salpetersäure. Der Körper verhält sich also in dieser Beziehung wie Xanthin, Guanin und Neurin. Ich prüfte nun die von mir hergestellte Masse in Bezug auf ihr Verhalten gegenüber einigen für die erwähnten Stoffe angegebenen Reagentien. Xanthin giebt mit Salpetersäure eingedampft und dann mit einem Tropfen Natronlauge behandelt eine intensive Rothfärbung. Ich erhielt durch Eindampfen der Lösung meiner Substanz mit Salpetersäure einen gelben Rückstand, der sich aber nach Zusatz von Natronlauge nicht roth, sondern dunkelgrau-braun färbte. Guanin mit rauchender Salpetersäure eingedampft, hinterlässt einen gelben glänzenden Rückstand, der sich nach Zusatz von Natronlauge ebenfalls roth färbt; ich erhielt aber auch hier nur eine grau-braune Färbung. Ich konnte also Xanthin und Guanin ausschliessen. Dass es sich um Neurin handeln könne, schien mir schon aus dem Grunde unwahrscheinlich, dass dieses bisher in thierischen Flüssigkeiten nur in Verbindung mit Lecithin gefunden worden ist, welch letzteres aber in Wasser unlöslich ist, also in meinen Präparaten, die alle wässerige Lösungen darstellten, kaum vorhanden sein konnte.

Zum Schluss will ich noch bemerken, dass die hygroskopische Masse ausser der erwähnten organischen Substanz auch noch anorganische Salze enthielt, die sich nach dem angegebenen Verfahren nicht vollständig entfernen liessen. Es handelte sich wohl nur um salpetersaure Salze, jedenfalls verpuffte die Masse beim Verkohlen. In der nach der Verbrennung der Kohle zurückbleibenden Asche liess sich Calcium nachweisen. Ausserdem war Salpetersaures Natron vorhanden, welches offenbar bei Gelegenheit der Kochsalzfällung hineingelangt war. Jedenfalls waren die anorganischen Bestandtheile nur in sehr kleiner Menge vertreten, denn eine ziemlich grosse Quantität der Masse hinterliess beim Verbrennen nur Spuren von Asche. Beim Verbrennen liess sich ein starker Geruch nach verbrannten Hornsubstanzen wahrnehmen.

Ich wollte nun auch andere Zellen zur Untersuchung heranziehen, um zu ermitteln, wie sie sich bei dem mit den Leberzellen eingeschlagenen Verfahren verhielten. Am geeignetsten zur Untersuchung erschienen mir die Milzzellen, weil man sie in derselben Weise wie die Leberzellen auswaschen kann. Ich verfuhr daher mit den Milzzellen genau ebenso wie mit den Leberzellen, nur dass ich die ausgewaschenen Zellen centrifugirte, da das Abfiltriren der Flüssigkeit bei diesen Zellen nur äusserst mangelhaft gelingt und sehr viel Zeit in Anspruch nimmt. Auch hier untersuchte ich zunächst die Waschflüssigkeiten. In der ersten Waschflüssigkeit konnte ich ebenso wie bei den Versuchen mit Leberzellen durch Mercurinitrat einen Niederschlag erhalten, während die letzte nicht die geringste

Trübung zeigte. Aus dem centrifugirten Zellenbrei stellte ich drei Präparate her und zwar alle drei mit Hämoglobinlösung. Von diesen Präparaten untersuchte ich eines nach 24 Stunden und erhielt hier mit Mercurinitrat einen, wenn auch unbedeutenden Niederschlag. Im zweiten Präparate, welches ich nach zwei Tagen untersuchte, trat nach Zusatz von Mercurinitrat eine viel voluminösere Fällung auf und im dritten Präparate endlich, welches ich ebenso lange stehen liess wie die Leberzellenpräparate, erhielt ich einen Niederschlag, der an Volumen demjenigen gleichkam, welcher in den, nur mit physiologischer Kochsalzlösung aufgestellten Leberzellenpräparaten auftrat, jedenfalls aber bedeutend stärker war, als in den andern Milzzellenpräparaten. Ich habe die über den Milzzellen stehende Flüssigkeit wegen Mangels an Zeit nicht so weit verarbeitet, dass ich durch Titriren genauere Resultate erhalten konnte, der mit der Zeit auftretende Unterschied im Volumen der Niederschläge war indessen so in die Augen fallend, dass zweifelsohne durch Titriren ebenfalls eine Entstehung resp. Vermehrung des in Frage stehenden Körpers durch einen fortgehenden inneren Zellenchemismus hätte nachgewiesen werden können.

Leider hatte ich zu meinen Versuchen zu kleine Mengen von Milzzellen verwandt, so dass ich darauf verzichten musste den Niederschlag mit Mercurinitrat bis zur Reindarstellung weiter zu verarbeiten und die Frage nach der Identität, der aus Milz- und Leberzellenflüssigkeit durch salpetersaures Quecksilberoxyd fällbaren Substanzen zur Entscheidung zu bringen. Ich prüfte nur die Flüssigkeit über den Milzzellen in Bezug auf ihr Verhalten gegenüber Phosphorwolframsäure. Mit

dieser erhielt ich auch hier eine Fällung und ich glaube nicht fehl zu gehen, wenn ich den aus den Milzzellen gewonnenen Körper als identisch mit dem aus den Leberzellen dargestellten, bezeichne. Dass sich dieser Körper auch in den Milzzellen bildete, wenn sie nicht mit Hämoglobin, sondern mit physiologischer Kochsalzlösung zusammengebracht wurden, konnte ich aus einem zweiten Versuch, wo ich ausser einem Hämoglobinpräparat auch ein Präparat mit Kochsalzlösung allein aufstellte, ersehen. Ob sich aber auch hier, wie bei den Leberzellen im Hämoglobinpräparat mehr bildet, als im Controllpräparate, kann ich nicht entscheiden, da ich die Flüssigkeiten nicht titrirt habe, halte dieses Verhalten aber für unwahrscheinlich, einmal, weil die durch Mercurinitrat erzeugten Niederschläge in beiden Präparaten von gleichem Volumen waren, dann aber auch aus dem Grunde, dass, wie A. Schwarz[1]) und N. Höhlein[2]) nachgewiesen haben, das Hämoglobin in der Flüssigkeit, nach der Entfärbung wieder vollständig regenerirt wird.

Beiläufig will ich noch einen Versuch anführen, den ich mit Lymphdrüsenzellen vornahm. Die Lymphdrüsenzellen erhielt ich durch Zerkleinern von mesenterialen Lymphdrüsen vom Rinde, Auspressen derselben und Centrifugiren des abfliessenden Saftes. Da die Lymphdrüsenzellen sich in einer Kochsalzlösung nicht senken, mithin sich nicht in derselben Weise, wie Leber-

1) Aug. Schwartz, Ueber die Wechselbeziehung zwischen Hämoglobin und Protoplasma. Inaug.-Diss. Dorpat 1888.

2) N. Höhlein, Ueber die Einwirkung der Milzzellen auf das Hämoglobin. Inaug.-Diss. Dorpat 1891.

und Milzzellen auswaschen lassen, so wurde der auf der Centrifuge erhaltene zellige Bodensatz nach Abgiessen des darüberstehenden Serum mit dem 10fachen Volumen destillirten Wassers verrührt und nach 24 Stunden filtrirt, wobei indessen ein grosser Theil der Zellen das Filtrum passirte. Das aus den Zellen aufgenommene Cytoglobin wurde durch Zusatz einiger Tropfen concentrirter Essigsäure zersetzt, wobei das sich ausscheidende eiweissartige Zersetzungsproduckt, das Präglobulin, sämmtliche in dem Filtrat suspendirte Zellen niederreisst und beim Filtriren auf dem Filtrum zurückhält, so dass eine ganz klare, schwach gelbliche Flüssigkeit erhalten wird. Von der so geklärten Flüssigkeit behandelte ich 100 Cubikcentimeter, nachdem ich die Essigsäure durch Natronlauge neutralisirt hatte, in der früher beschriebenen Weise und erhielt auch hier mit Mercurinitrat einen recht voluminösen Niederschlag. Leider stand mir damals keine Phosphorwolframsäure zur Verfügung, ich musste daher auf die nähere Untersuchung der Flüssigkeit verzichten.

Résumé.

Obgleich ich nach den vorliegenden Untersuchungen über die chemische Constitution des aus den Leberzellen gewonnenen Körpers keine genauen Anhaltspunkte anführen kann, so glaube ich mich doch zu folgenden Annahmen berechtigt: Es scheint mir zweifellos, dass es sich um ein Produkt der regressiven Eiweissmetamorphose handelt und zwar aus dem Grunde, weil man

nach Zuführung von Eiweiss, besonders aber von Hämoglobin eine zuweilen recht beträchtliche Vermehrung des in Rede stehenden Körpers constatiren kann. Dafür spricht ferner der Umstand, dass die Entstehung aus, den Leberzellen zugeführtem Eiweiss oder Hämoglobin bereits für zwei Produkte der regressiven Eiweissmetamorphose, das Glycin und das Taurin von Kallmeyer nachgewiesen ist. Dass die Zersetzung des Eiweisses nicht bis zur Endstufe, bis zur Harnstoffbildung bei den Versuchen mit isolirten Leberzellen fortschreitet, lässt sich wohl dem Umstande zuschreiben, dass man die Zellen nicht soweit in, den natürlichen Verhältnissen ähnliche, Bedingungen versetzen kann.

Wenn, was ich allerdings nicht behaupten, wohl aber als wahrscheinlich annehmen kann, der in den Milz- und Lymphdrüsenzellen vorkommende Körper identisch mit dem aus den Leberzellen gewonnenen ist, so erscheint es mir wahrscheinlich, dass er sich auch noch in anderen Zellarten vorfinden wird und ein Produkt ihres Chemismus darstellt, ob er aber unter natürlichen Verhältnissen in der Zelle selbst zu weiteren Eiweissderivaten, vielleicht bis zur Endstufe verarbeitet wird, oder, wenn das nicht der Fall, an welchem Orte diese Umwandlung geschieht, ist eine Frage, deren Entscheidung noch weiterer Beiträge bedarf.

Dorpat, Physiolog. Institut den 2. Mai 1891.

Thesen.

1. Populär gehaltene medicinische Abhandlungen, sind, sofern sie nicht das Gebiet der Hygieine und Diätetik betreffen, für das Publikum von zweifelhaftem Werth.
2. Das Seltenerwerden der Rauchstuben bei unserem Landvolke ist vom hygieinischen Standpunkte zu bedauern.
3. Die Anwendung von Chloralhydrat bei Delirium tremens sollte nach Möglichkeit eingeschränkt werden.
4. Bei acuter Cystitis sind Ausspülungen mit einer Jodoformemulsion allen andern Ausspülungen vorzuziehen.
5. Bei abnormen Zersetzungsprozessen im Magen ist die innerliche Anwendung von Chloroform zu versuchen.
6. Die Anwendung des zum innerlichen Gebrauch bei Aortenaneurysmen empfohlenen Jodkalium und Plumbum aceticum ist nur eine „Medicatio, ut aliquid fiat".
7. Zur sichern Diagnose gewisser Formen von Ovarialtumoren ist die Untersuchung in Suspension (nach W. Freund) erforderlich.